

(C) WPI / DERWENT

AN - 1996-263789 [27]

AP - JP19940246160 19941012

CPY - GREC

DC - A96 B04 C03

DR - 0032-U 0104-U 0114-U 0135-U 0290-U 0326-S 0326-U 0419-U 0540-U 0964-S
0964-U 1656-U

FS - CPI

IC - A61K38/55 ; C07K14/81

MC - A12-V01 B04-B04D2 C04-B04D2 B04-M01 C04-M01 B14-F02B C14-F02B
B14-F02D1 C14-F02D1

M1 - [01] M423 M431 M782 M903 P520 P526 P528 P616 P813 V600 V613 V814

- [11] H7 H721 M210 M212 M320 M416 M423 M431 M610 M782 M903 M904 M910
V743; R00326-M R00326-Q; 0326-S 0326-U- [12] H7 H721 M210 M213 M231 M320 M416 M423 M431 M610 M782 M903 M904
M910 V743; R00964-M R00964-Q; 0964-S 0964-UM2 - [02] H1 H100 H181 J0 J012 J1 J172 M280 M312 M321 M332 M343 M349 M381
M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q620; R00114-M; 0114-U- [03] H4 H401 H481 H8 J0 J013 J1 J173 M280 M313 M321 M332 M344 M349
M381 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q620; R00419-M; 0419-U- [04] H1 H100 H181 J0 J011 J1 J171 M280 M311 M321 M342 M349 M381 M391
M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q620; R00104-M; 0104-U- [05] H4 H401 H481 H8 J0 J012 J1 J172 M280 M312 M321 M332 M343 M349
M381 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q620; R01656-M; 1656-U- [06] H4 H405 H484 H8 K0 L8 L816 L821 L833 M280 M315 M321 M332 M344
M383 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q620; R00290-M; 0290-U- [07] A111 A960 C710 H4 H401 H481 H8 J0 J013 J1 J173 M280 M313 M321
M332 M344 M349 M381 M391 M411 M431 M510 M520 M530 M540 M620 M630 M782
M903 M904 Q620; R04004-M; 0419-U- [08] H4 H405 H484 H8 K0 L8 L814 L821 L833 M280 M315 M321 M332 M344
M383 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q620; R00032-M; 0032-U- [09] F012 F013 F014 F015 F016 F017 F019 F113 F123 H4 H405 H424 H483 H5
H521 H8 K0 L8 L814 L818 L822 L831 M1 M126 M141 M280 M311 M323 M342
M373 M393 M413 M431 M510 M522 M530 M540 M782 M903 M904 M910 Q620;
R00135-M; 0135-U- [10] H4 H402 H482 H8 J0 J012 J1 J172 M280 M312 M321 M332 M344 M349
M381 M391 M416 M431 M620 M782 M903 M904 M910 Q620; R00540-M; 0540-U

PA - (GREC) GREEN CROSS CORP

PN - JP8109140 A 19960430 DW199627 A61K38/55 005pp

PR - JP19940246160 19941012

XA - C1996-083708

XIC - A61K-038/55 ; C07K-014/81

AB - J08109140 Antihypertensive contains antithrombin III (AT-III) of human
origin.

- AT-III may be formulated into formulations together with additives (e.g. carrier, filler, diluent), stabilisers (e.g. mannitol, sorbitol, sucrose, citric acid, malic acid, tartaric acid aspartic acid or glycine) and surface activators (e.g. polyoxyethylene-polyoxypropylene co-polymer).
- The dosage is 1-1,000 (10-500)unit/kg/day, as AT-III at a single or divided dose. The intravenous dose is 50-200 unit/kg/day, (100)unit/kg/day. One unit of AT-III corresponds to the amt. contained in 1ml healthy human plasma.
- USE/ADVANTAGE - The antihypertensive is used in prevention or treatment of hypertension in mammals, e.g. human, dog, bovine, equine, marine or rat, e.g. essential, renal or pulmonary hypertension or circulatory diseases accompanied by hypertension, e.g. cerebral infarction. It may be administered orally or parenterally as powder,

granules, tablets, capsules, syrup, or injection (for i.v.). AT-III (mol.wt. 65,000-68,000) inhibits protease in a blood coagulation system and strongly inhibits the coagulation activity of thrombins and other coagulation factors, e.g. activators IX and X. As antihypertensive, AT-III acts on the endothelium cells together with heparan sulphate to accelerate release of prostacyclin which acts as a vasodilator. Acute toxicity: LD50 = more than 15,000 unit/kg (p.o. and i.v.) and 20,000 unit/kg (s.c.) in mice; 6,000 unit/kg (i.v.) in monkey.

- In an example, a mixt. of 500 unit AT-III, 200mg mannitol, 50mg NaCl and 52mg Na citrate was lyophilised in a vial. This may be dissolved in 20ml distilled water for injection (i.v.) immediately before use. (Dwg. 0/4)

CN - R00114-M R00419-M R00104-M R01656-M R00290-M R04004-M R00032-M
R00135-M R00540-M R00326-M R00326-Q R00964-M R00964-Q

DRL - 0114-U 0419-U 0104-U 1656-U 0290-U 0032-U 0135-U 0540-U 0326-S 0326-U
0964-S 0964-U

IW - ANTIHYPERTENSIVE TREAT HYPERTENSIVE CIRCULATE DISEASE CONTAIN
ANTITHROMBOTIC HUMAN ORIGIN

IKW - ANTIHYPERTENSIVE TREAT HYPERTENSIVE CIRCULATE DISEASE CONTAIN
ANTITHROMBOTIC HUMAN ORIGIN

NC - 001

OPD - 1994-10-12

ORD - 1996-04-30

PAW - (GREC) GREEN CROSS CORP

TI - Antihypertensive for treating hypertension or circulatory diseases -
contains antithrombin III of human origin

A01 - [001] 018 ; R00351 G1558 D01 D23 D22 D31 D42 D50 D73 D82 F47 ;
R00370 G1558 D01 D11 D10 D23 D22 D31 D42 D50 D73 D83 F47 ; H0022
H0011 ; H0044-R H0011 ; P8004 P0975 P0964 D01 D10 D11 D50 D82 F34 ;
P8015 P0975 P0964 D01 D10 D11 D50 D83 F34 ; P0055 ;
- [002] 018 ; ND01 ; Q9999 Q9110 ; Q9999 Q8037 Q7987 ;

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-109140

(43) 公開日 平成8年(1996)4月30日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 38/55	ABU			
	ABN			
C 0 7 K 14/81		8318-4H		
			A 6 1 K 37/ 64	ABU
				ABN
			審査請求	未請求 請求項の数1 O L (全 5 頁)
(21) 出願番号	特願平6-246160		(71) 出願人	000137764
(22) 出願日	平成6年(1994)10月12日			株式会社ミドリ十字
				大阪府大阪市中央区今橋1丁目3番3号
			(72) 発明者	岡嶋 研二
				熊本県熊本市保田壱1-2-134-508
			(72) 発明者	内場 光浩
				熊本県熊本市本荘4丁目10-14 タカラヤビル1001号
			(74) 代理人	弁理士 高島 一

(54) 【発明の名称】 高血圧症予防治療剤

(57) 【要約】

【構成】 ヒト由来アンチトロンビン-III を有効成分とする高血圧症予防治療剤。

【効果】 ヒト由来アンチトロンビン-III は哺乳動物に対して血圧低下作用を示し、高血圧症（本態性高血圧症、腎性高血圧症、肺高血圧症など）、また他の高血圧症状を伴う循環器系疾患の予防および／または治療に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒト由来アンチトロンビン-IIIを有効成分とする高血圧症予防治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ヒト由来アンチトロンビン-III（以下、単にAT-IIIという）を有効成分とする高血圧症予防治療剤に関する。

【0002】

【従来技術・発明が解決しようとする課題】AT-IIIは血漿中に存在する α_2 グロブリンに属する糖蛋白質の一種で、その分子量は65,000~68,000であり、血液凝固系のプロテアーゼ阻害活性を有し、トロンビンの凝固活性を強く阻害する。また、トロンビンに対する阻害作用のみならず、その他の凝固因子、例えば活性化X因子、活性化IX因子などに対する阻害作用をも有している。その他、プラスミンやトリプシンに対する阻害作用があることも報告されている。これらの阻害作用は、一般にヘパリンの共存下でより速やかに進行することが知られている。このような薬理作用を有するAT-IIIは、凝固異常亢進の補正、具体的には汎発性血管内凝固症候群(DIC)の治療を目的として用いられている。

【0003】本発明は、AT-IIIの従来知られていなかった作用を利用した新規な薬剤を提供することを目的とする。すなわち、AT-IIIの新規な医薬用途を提供することを目的とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、AT-IIIが血圧低下作用を有し、高血圧症の予防および/または治療に有用であることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0005】即ち、本発明はAT-IIIを有効成分とする高血圧症予防治療剤に関する。

【0006】本発明で使用されるAT-IIIは、ヒト由来のもので、医薬として使用できる程度に精製されたものであれば特に制限されるものではなく、例えばヒトの全血、血漿、血清または凝固した血液から圧搾された血清等から精製することができる。使用される血液としては、特にHBs抗原、抗HIV抗体に陰性であり、GTPが正常値の2倍以下であるものが好ましい。

【0007】AT-IIIを調製するための出発原料としては、例えば血漿のコーン分画法における画分IV-1、画分IV、上清Iまたは上清II+IIIが使用される。AT-IIIの精製法としては、例えば特開昭48-35017号明細書、特公昭59-7693号明細書に開示の方法等が例示される。また、AT-IIIは細胞培養法（例えば、特表昭57-500768号公報参照）、遺伝子工学法（例えば、特開昭58-162529号公報参照）などにより調製されるものであってもよい。また、

市販のAT-III製剤（例えば商品名：ノイアート/（株）ミドリ十字等）を用いることもできる。

【0008】本発明の高血圧症予防治療剤の有効成分であるAT-IIIは、ヒト、イヌ、ウシ、ウマ、マウス、ラット等の哺乳動物に対して血圧低下作用のような高血圧症改善効果を示し、高血圧症（本態性高血圧症、腎性高血圧症、肺高血圧症など）、また他の高血圧症状を伴う循環器系疾患（例えば、脳梗塞に伴う血圧上昇）の予防および/または治療に有用である。

【0009】本発明の高血圧症予防治療剤は、例えばインドメタシンのようなプロスタサイクリン生成を阻害する薬剤と併用しないことが好ましい。又、有効成分としてAT-III単独の態様で使用されることが好ましい。

【0010】本発明の高血圧症予防治療剤は、本発明の目的に反しない限り通常医薬品に用いられる薬理的に許容される添加剤（例えば、担体、賦形剤、希釈剤等）、安定化剤または製薬上必要な成分を配合していてもよい。安定化剤としては、マンニトール、ソルビトール、サッカロースなどの糖類、クエン酸、リンゴ酸、酒石酸、アスパラギン酸などの有機酸またはその塩（例えばナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩）、グリシンなどのアミノ酸、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレン共重合体、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルなどの界面活性剤などが挙げられる。

【0011】本発明製剤は、AT-IIIと上記成分とを適宜混合し、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、シロップ剤、注射剤等の態様に調製されて、経口的または非経口的に投与される。好ましくは、静脈内投与の態様である。本製剤は、特にAT-IIIを薬理的に許容される添加剤とともに凍結乾燥品として調製しておき、用時溶解して使用する態様の製剤とすることが好ましい。かかる製剤は、使用時に注射用蒸留水や滅菌精製水等によって約1~300AT-III単位/ml溶液として、より好ましくは生理的に等張な塩濃度および生理的に好ましいpH値（pH6~8）に調整される。

【0012】投与量は症状、体重、性別、動物種等によって適宜選択すればよく、一般的にヒトの成人に対しては、通常1~1000単位/kg体重/日、好ましくは10~500単位/kg体重/日を1日1~数回に分けて投与する。AT-IIIの投与量は投与経路により変わりうる。例えば、静脈内投与の場合50~200単位/kg体重/日、好ましくは100単位/kg体重/日の投与量で投与することが、高血圧症に対する有効な予防および治療効果を得るためにより好ましい。本明細書において、AT-IIIの力価は、1単位が正常人血漿1ml中に含まれるAT-III量に相当する。

【0013】

【実験例・実施例】以下、本発明を詳細に説明するため実験例および実施例を挙げるが、本発明はこれらによって何ら限定されるものではない。

【0014】実験例1

高血圧自然発症ラット（以下、SHRという）を用いてAT-IIIの血圧に対する効果を試験した。ペントバルビタール麻酔下にラットの大腿動脈にカニューレを挿入し、血圧を測定した。各種薬剤は対側の大腿静脈より投与した。薬剤投与後、30分毎にラットの血圧変化を測定した。実験は以下の4群（1群4匹）で行った。①コントロール（正常Wistarラット、生理食塩水投与）、②SHR、AT-III 50単位/kg体重投与、③SHR、AT-III 250単位/kg体重投与、④SHR、AT-III 500単位/kg体重投与。結果を図1に示す。SHRの群でAT-III投与後、徐々に血圧が低下し、投与2時間後に血圧が最低となった。特に、AT-III 250単位/kg体重投与群およびAT-III 500単位/kg体重投与群で著明な血圧低下が認められた。また、正常WistarラットにAT-IIIを投与した場合、血圧低下作用はSHRの場合に比べてわずかであった。

【0015】実験例2

AT-IIIとヘパリンを同時投与して血圧に対する効果を試験した。実験例1と同様にして薬剤投与後のラットの血圧変化を測定した。実験は以下の4群（1群4匹）で行った。①コントロール（正常Wistarラット、生理食塩水投与）、②SHR、AT-III 250単位/kg体重投与、③SHR、AT-III 250単位/kg体重およびヘパリン300単位/kg体重投与、④SHR、ヘパリン300単位/kg体重投与。なお、③群において、AT-IIIとヘパリンは同時に投与した。結果を図2に示す。AT-IIIをヘパリンと同時に投与するとAT-IIIの血圧低下作用が消失した。ヘパリン単独投与では血圧に影響を及ぼさなかった。また、正常WistarラットにAT-IIIを投与すると血中6-ケートPGF α の上昇が認められ、AT-IIIは血管内皮細胞からプロスタサイクリンを放出させると考えられる。この血中6-ケートPGF α の上昇はヘパリンの前投与で消失した。これらの結果から、AT-IIIの血圧低下作用は血管内皮細胞からのプロスタサイクリン放出の促進によることが示唆される。

【0016】実験例3

AT-IIIのTrp49を化学修飾し、ヘパリンとの結合を消失させた化学修飾AT-III（以下、Mod-AT-IIIという）の血圧に対する効果を試験した。実験例1と同様にして薬剤投与後のラットの血圧変化を測定した。実験は以下の3群（1群4匹）で行った。①コントロール（正常Wistarラット、生理食塩水投与）、②SHR、AT-III 250単位/kg体重投与、③SHR、Mod-AT-III 250単位/kg体重投与。結果を図3に示す。Mod-AT-IIIの投与では血圧の低下は認められなかった。またMod-AT-IIIの投与では血中6-ケートPGF α の上昇は認

められなかった。

【0017】実験例4

プロスタサイクリン生成阻害剤であるインドメタシンで前処置したラットにおけるAT-IIIの血圧に対する効果を試験した。実験例1と同様の方法で薬剤投与後のラットの血圧変化を測定した。実験は以下の3群（1群4匹）で行った。①コントロール（正常Wistarラット、生理食塩水投与）、②SHR、AT-III 250単位/kg体重投与、③SHR、インドメタシン5mg/kg体重前処置、AT-III 250mg/kg体重投与。なお、③群において、AT-III投与の30分前にインドメタシンを対側の大腿静脈から投与した。結果を図3に示す。インドメタシンで前処置し、プロスタサイクリンの生成を阻害すると、AT-IIIの血圧低下作用が消失した。

【0018】従来、AT-IIIは血管内皮細胞上のヘパラン硫酸と相互作用し血液凝固反応を制御することが知られている。上記の実験結果から、AT-IIIは血管内皮細胞上のヘパラン硫酸と相互作用し、血管内皮細胞からのプロスタサイクリン放出を促進することにより、血管拡張作用を発現していると考えられる。

【0019】実験例5

急性毒性(LD $_{50}$)はマウス、ラットの雌雄による差はなく、静脈内投与、経口投与とも15000単位/kg体重以上、皮下投与では20000単位/kg体重以上であった。また、サル（雄）では静脈内投与で6000単位/kg体重以上であった。

【0020】実施例1

コーンの冷アルコール分画法で得られた画分IV-1のペースト10kgを生理食塩水100リットルに懸濁し、硫酸バリウムを5(w/v)%になるように加え、室温で30分間攪拌し、微量に存在するプロトロンビンを硫酸バリウムに吸着させて除去した。この上清液をpH6.5に調整し、ポリエチレングリコール#4000を13(w/v)%になるように加え、生じた沈澱を遠心分離して除き、さらにポリエチレングリコール#4000を30(w/v)%になるように加え、さらに生じた沈澱を遠心分離して回収した。この沈澱を冷生理食塩水約20リットルに溶解し、予め生理食塩水で調製されたヘパリンセファロースを充填したカラムへ注入し、AT-IIIをカラムに吸着させた。このカラムを0.4Mの塩化ナトリウム溶液で洗浄して不純蛋白を除いたのち、2.0Mの塩化ナトリウム溶液をカラムに流して溶出してくる部分を回収した。このAT-IIIの水溶液にクエン酸ナトリウムを0.6Mの濃度に加え、pH7.8に調整した後60℃で10時間の加熱処理を施し、続いて0.9%塩化ナトリウム溶液に対し1夜透析を行いつつ濃縮してAT-IIIの1(w/v)%水溶液を得、必要に応じて濾過または遠心分離を行って透明な液とした。このAT-IIIの1(w/v)%水溶液にマンニトール

2 (w/v) %とクエン酸ナトリウム0.2 (w/v) %を加え、塩化ナトリウムが0.5 %になるように少量の冷蒸留水で希釈し、1 Nの水酸化ナトリウムでpH 7.6に調整した後、滅菌したミリポアフィルターで除菌濾過し、500単位ずつ分注し、凍結乾燥を行って乾燥製剤とした。

【0021】実施例2

1バイアル中、

AT-III	500単位
マンニトール	200mg
塩化ナトリウム	50mg
クエン酸ナトリウム	52mg

よりなる凍結乾燥品を用時20mlの注射用蒸留水に溶解して、静注用製剤とした。

【0022】

*

＊【発明の効果】AT-IIIは哺乳動物に対して血圧低下作用を示し、高血圧症（本態性高血圧症、腎性高血圧症、肺高血圧症など）、また他の高血圧症状を伴う循環器疾患（例えば、脳梗塞に伴う血圧上昇）の予防および／または治療に有用である。

【図面の簡単な説明】

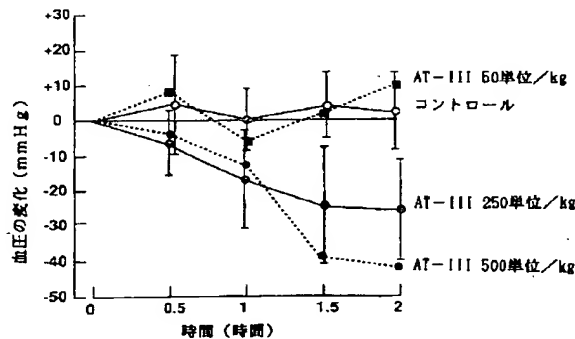
【図1】実験例1における血圧変化の結果を示すグラフである。

【図2】実験例2における血圧変化の結果を示すグラフである。

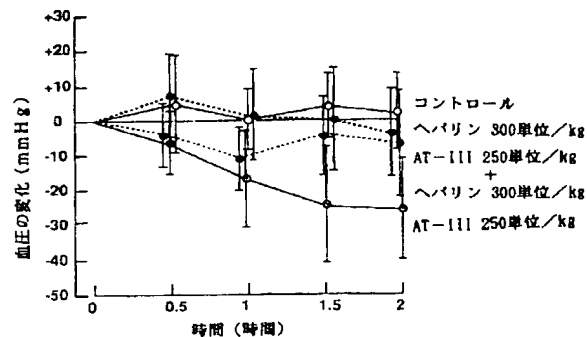
【図3】実験例3における血圧変化の結果を示すグラフである。

【図4】実験例4における血圧変化の結果を示すグラフである。

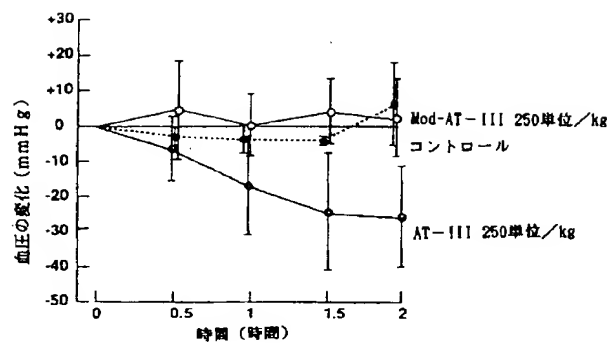
【図1】



【図2】



【図3】



【図4】

